

PRODUCTION OF BEER NOT HAVINIG WHIPPABILITY

Publication number: JP53127896 (A)

Publication date: 1978-11-08

Inventor(s): HORIUCHI TAKESHI; YABUUCHI SEIZOU; SUZUKI SATORU;
AMOU MIKIO

Applicant(s): ASAHI BREWERIES LTD

Classification:

- international: C12H1/14; C12H1/22; C12H1/00; (IPC1-7): C12H1/14

- European:

Application number: JP19770042169 19770413

Priority number(s): JP19770042169 19770413

Also published as:

☐ JP56009913 (B)

☐ JP1067424 (C)

Abstract not available for JP 53127896 (A)

Data supplied from the *esp@cenet* database — Worldwide

⑨日本国特許庁
公開特許公報

⑪特許出願公開
昭53—127896

⑤Int. Cl.²
C 12 H 1/14

識別記号

⑥日本分類
36(5) B 24

庁内整理番号
7421—49

④公開 昭和53年(1978)11月8日

発明の数 1
審査請求 有

(全 4 頁)

④噴きのないビールの製造法

①特 願 昭52—42169

②出 願 昭52(1977)4月13日

⑦発 明 者 堀内剛

横浜市港北区錦が丘11—2

同 藪内精三

横浜市南区大岡4—17—1 上

大岡アパート

⑦発 明 者 鈴木了

吹田市泉町2—2—13 高風寮

同 天羽幹夫

東京都練馬区豊玉中1—1084

⑧出 願 人 朝日麦酒株式会社

東京都中央区京橋三丁目1番地

⑨代 理 人 弁理士 月村茂 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

噴きのないビールの製造法

2. 特許請求の範囲

1. 後発酵の期間中にシステインプロテアーゼを添加するビールの製造工程において、発酵後の発酵液をいし製品となつたビールに、ストレプトマイセスナニワエンシスの生産するペプシン阻害剤によつて活性が阻害される酸性プロテアーゼを添加することを特徴とする噴きのないビールの製造法。

2. システインプロテアーゼがパバインである特許請求の範囲第1項記載のビールの製造法。

3. 酸性プロテアーゼを前発酵終了時の若ビールに添加する特許請求の範囲第1項記載のビールの製造法。

4. 酸性プロテアーゼを発酵時または発酵後のビールに添加する特許請求の範囲第1項記載のビールの製造法。

5. 酸性プロテアーゼの添加量が100ppm以

下である特許請求の範囲第1項記載のビールの製造法。

3. 発明の詳細な説明

この発明は噴きのないビールを製造する方法に関する。この発明で言う噴きとは、ビールの封入されたびんまたは缶のような容器を開けたとき、中のビールが急激に発泡して容器の口から溢れ出ることである。

ビールの噴きが起こる原因としては、腐敗カルシウムからなる微細結晶の存在、鉄イオンまたはニッケルイオンのような金属イオンの混在、窒素または水素ガスの混在、天候不順時に栽培して収穫したカビ汚染大麦の使用、ホップエキス中の成る極の噴き誘発性物質の存在、などが多くの研究者によつて指摘されているが、すべてのビールの噴きの原因が明らかになつていない。現象的に観察されている噴き量について言えば、使用原料、醸造方法およびビールを容器に封入してからの日数などによつて異なり、甚だしいときには容器内のビールの

約半分が溢れ出ることさえあるというように、噴き現象は質的に極めて多様である。

本発明者らが称している市場噴きも、まだその原因が十分に解明されていない噴きの1つである。この市場噴きの特徴は、ビールを容器に封入した直後には噴きが全く認められないが、これを市場で数週間放置しておくると徐々に噴きの兆候が現われてくることにある。この現象は頻度が多いにも拘らず、原因が不明なため今日まで対策がなされていなかった。

本発明者らは、市場噴きの原因を検討した結果、ある種の酸性プロテアーゼを用いることによつて市場噴きのないビールを造れることを見出した。本発明はこの知見に基づくもので、後発酵の期間中に寒冷混濁防止のためにシステインプロテアーゼを添加するビールの製造工程において、伊過後の麦汁、発酵液ないし製品となったビールに、ストレプトマイセスナニワエンス(*Streptomyces naniwaensis*)の生産するペプシン阻害剤によつて活性が阻害される酸性

プロテアーゼを添加するものである。

次に本発明を本発明に到達した過程にしたがつて詳しく説明する。

パバインなどのシステインプロテアーゼ(*Cysteine proteases*)は、ビールの寒冷混濁防止剤として広く用いられているが、これらシステインプロテアーゼの使用が本発明で述べるビールの市場噴きを誘発しているという新事実が、本発明者らが行つた種々の実験結果から明らかになった。その実験結果の1例を図-1に示すが、これらの結果は、寒冷混濁防止剤としてパバインを使用し或いは使用しないでビールを製造し、これらのビールをそれぞれ6.33 ml入のびんに入れて栓をしたものを25℃に保存して市場噴きがどのように出現してくるのかを調べたものである。表中、噴き量(ml)は、25℃で保存されている試料を0℃恒温室で72時間放置後、25℃恒温室で90分正置し、その後10秒で3回転、30秒正置後開栓してびんの口から溢れ出た液量をメスシリンダ

で測定したものである。

図-1

試料	噴 き 量					
	0日	15日	30日	45日	60日	75日
パバインを使用したビール	0 ml	0 ml	15 ml	35 ml	70 ml	75 ml
パバインを使用しないビール	0	0	0	0	0	0

図-1の実験結果から分るように、パバインを使用したビールは、30日間保存後に噴きが出始め、75日後まで噴きは徐々に増大していった。一方、パバインを使用しないビールは、75日後も噴きは全く生ぜず、パバイン使用の有無が市場噴きに強い影響を有していることが明らかとなった。また同様な現象は、他のシステインプロテアーゼ、たとえばフィシン、プロメルリンなどをパバインの代りに使用した場合にも観察された。一方、他のグループに属するプ

ロテアーゼ、たとえばセリンプロテアーゼ(*Serine proteases*)などの使用は噴きを全く誘発せず、市場噴きがシステインプロテアーゼの性質に帰因するものであることが明白となった。

さらに詳しく調べた結果、パバインなどのシステインプロテアーゼは、ビールの蛋白質およびペプチドに作用して、噴きの性質を持つた水に難け難い化合物の母体を作っていることが明らかとなった。これらの化合物はいずれも、より低分子化されたペプチドを含む物質であるが、これらについての解析結果を通じて、本発明者らは、微生物であるストレプトマイセスナニワエンスが生産するペプシン阻害剤で活性が阻害される酸性プロテアーゼが、上記の噴きと関係のある物質を分解して噴きを抑制するということを見出した。上記のペプシン阻害剤は、多くの酸性プロテアーゼの内、ある共通した活性中心をもつ酵素に限つてその活性を阻害する性質を有している。上記のペプシン阻害剤で活性

が阻害される酸性プロテアーゼの効果は、後述する実施例において説明するが、上記のペプシン阻害剤で活性が阻害されない酸性プロテアーゼ、たとえば微生物であるサイタリデウムリグニコラム (*Seytaliidium lignicolum*) の生産する酸性プロテアーゼの1種の使用は噴きを全く抑制せず、噴きの抑制作用が酸性プロテアーゼの上記ペプシン阻害剤に対する感受性の有無によつて分類されることが明らかとなつた。

本発明で使用される酸性プロテアーゼは、上述したように、ストレプトマイセスナニウエンスが生産するペプシン阻害剤で活性が阻害されるものであればよく、このような酸性プロテアーゼを生産する微生物としては、アスペルギルスニガー (*Aspergillus niger*)、アスペルギルスカルボリウス (*Aspergillus carbonarius*)、アスペルギルスフィシニウム (*Aspergillus ficuum*)、アスペルギルスフェニシス (*Aspergillus phoenicis*)、アスペルギルスブルヘルレンタス (*Aspergillus pulverulentus*)、

アスペルギルスアワモリ (*Aspergillus awamori*)、アスペルギルスヘテロモルフス (*Aspergillus heteromorphus*)、アスペルギルスフエティダス (*Aspergillus foetidus*)、アスペルギルスアウレウス (*Aspergillus aureus*)、アスペルギルスヤポニカス (*Aspergillus japonicus*)、アスペルギルスアクレエタス (*Aspergillus aculeatus*)、アスペルギルスエルプタイクス (*Aspergillus ellipticus*)、アスペルギルスサイトイ (*Aspergillus saitoi*)、アスペルギルスソーヤ (*Aspergillus sojae*)、アスペルギルスイヌイ (*Aspergillus inui*)、アスペルギルスオリーゼ (*Aspergillus oryzae*)、リゾプステヤイネンシス (*Rhizopus chinensis*)、トラメテスサンダニア (*Trametes sanguinea*)、ムコールプシリス (*Mucor pusillus*)、ムコールミハイ (*Mucor miehei*)、ペニシリウムデュポンテー (*Penicillium dupontii*)、ペニシリウムヤンチネリウム (*Penicillium janthinellum*)、エンドマイコブシスファイブリ

グラ (*Endomycopsis fibuligera*)、ロドトルラグルティニス (*Rhodotorula glutinis*) などが挙げられる。

本発明は上記のような酸性プロテアーゼを逕過後の発酵液、発酵液ないし製品となつたビールに添加するものであるが、その添加時期は、寒冷混濁防止のために後発酵期間中のビールに添加するシステインプロテアーゼの添加の前後あるいは添加と同時のいずれでもよい。更にシステインプロテアーゼと酸性プロテアーゼを混合しておき添加する方法も可能である。とくに前発酵終了時の若ビールあるいは逕過時または逕過後のビールに添加するのが好ましい。また、上記酸性プロテアーゼの添加量はシステインプロテアーゼの使用量の多少にかかわらず100 ppm以下が適当であり、100 ppm以上添加しても効果に変わりはない。なお、この添加量を規定するに当つて基準とした酸性プロテアーゼの力価は、次に示す測定法で最終発色液の吸光度が0.3前後を示すものであつた。

酵素活性の測定は、酸性プロテアーゼを含む酵素液1 mlに2%ミルクカゼイン溶液1 mlを加え、至適 pH 下3.0℃で10分間反応させた後、0.4モルのトリクロル酢酸溶液2 mlを加え反応を停止させる。このものを逕過して得た溶液1 mlに0.4モルの炭酸ナトリウム溶液5 mlおよびフォリン試薬1 mlを加えて発色させ、ブランクを対照として660 mμで1.0 cmセルを用いて吸光度を測定する。

次に本発明の実施例を、酸性プロテアーゼの種類を変えた場合、添加時期を変えた場合、添加量を変えた場合について示す。

実施例1

前発酵終了時の若ビールに、ババイン

20 ppmとアスペルギリウスサイトイの生産する酸性プロテアーゼを異なる濃度で加え、常法に従つて後発酵を終えたのち、各ビールを633 ml入のびんに封入し、これらを25℃に保存して市場噴きの試験を行つた。その結果を表-2に示す。この結果から明らかなよ

うに、酸性プロテアーゼの噴き抑制効果は顯著で、少量の添加でもその効果が認められる。

表-2

保存日数 酵素添加量	噴 き 量				
	0日	30日	60日	90日	120日
0 ppm	0 ml	10 ml	45 ml	60 ml	80 ml
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0

実施例 2

リゾブスチアイネンシスの生産する酸性プロテアーゼを、実施例 1 と同じ時期に 20 ppm 加えてビールを製造したのち、市場噴きを調べたところ、実施例 1 と同様の顕著な噴き抑制効果が認められた。

実施例 3

トラメテスサングニアの生産する酸性プロテアーゼを、実施例 1 と同じ時期に 2 ppm お

グニア、ムコールブシリヌおよびペニシリウムデユボンターの生産する各酸性プロテアーゼをそれぞれ実施例 4 と同様にビールに加え、市場噴きを調べたところ、何れも実施例 4 と同様の顕著な噴き抑制効果があつた。

特許出人 朝日麦酒株式会社

代理人 弁理士 月 村 茂
外 1 名

特開昭53-127896(4)

および 20 ppm 加えてビールを製造したのち、市場噴きを調べたところ、実施例 1 と同様の結果が得られた。

実施例 4

後発酵中にババイン 18 ppm を添加して製造したビールにアスペルギリウスサイトイの生産する酸性プロテアーゼを加え、このビールを 633 ml 入のびんに封入して、25℃で 30 日間保存したのち、市場噴きを調べたところ、表-3 に示すような結果が得られた。

表-3

酵素添加量 (ppm)	噴 き 量 (ml)
0	50
4	7
8	0
18	0
30	0

実施例 5

リゾブスチアイネンシス、トラメテスサ